

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE



別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出 願 年 月 日

Date of Application:

2002年 2月 8日

出 願 番 号

Application Number:

特願2002-031668

[ ST.10/C ]:

[ JP 2002-031668 ]

出 願 人

Applicant(s):

横河電機株式会社

2002年 2月26日

特 許 庁 長 官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

及 川 耕 造

出証番号 出証特2002-3011352

【書類名】 特許願  
【整理番号】 01N0117  
【あて先】 特許庁長官殿  
【国際特許分類】 G01N 21/64  
【発明者】

【住所又は居所】 東京都武蔵野市中町2丁目9番32号 横河電機株式会社  
社内

【氏名】 田名網 健雄

【発明者】

【住所又は居所】 東京都武蔵野市中町2丁目9番32号 横河電機株式会社  
社内

【氏名】 杉山 由美子

【特許出願人】

【識別番号】 000006507

【氏名又は名称】 横河電機株式会社

【代表者】 内田 勲

【先の出願に基づく優先権主張】

【出願番号】 特願2001-139678

【出願日】 平成13年 5月10日

【先の出願に基づく優先権主張】

【出願番号】 特願2001-140137

【出願日】 平成13年 5月10日

【先の出願に基づく優先権主張】

【出願番号】 特願2001-140835

【出願日】 平成13年 5月11日

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 005326

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 バイオチップ読取装置

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

レーザ等のコヒーレント光を励起光としてバイオチップの各セルに照射し、バイオチップの各セルの試料から発生する蛍光を読取るようにしたバイオチップ読取装置において、

複数のマイクロレンズが配置され回転可能に形成された回転板と、

2次元状に配列された受光素子により前記バイオチップの蛍光像を受光する2次元状の受光器

を具備し、前記回転板を回転し前記複数のマイクロレンズで個別に集光された励起光ビームにより光走査し、前記バイオチップの各セルが個別に照射されるように構成したことを特徴とするバイオチップ読取装置。

【請求項 2】

透過型または反射型であることを特徴とする請求項 1 記載のバイオチップ読取装置。

【請求項 3】

表面が平坦な試料に励起光を照射し、試料中の蛍光物質から発生する蛍光を像形成光学系を介して結像し、その像を受光器で読取るように構成したバイオチップ読取装置において、

前記試料面からの蛍光は透過するが試料から反射した励起光は減衰する作用効果を有するバリアフィルタを、試料から反射した励起光が±5度以内の入射角で入射するように前記像形成光学系内に配置したことを特徴とするバイオチップ読取装置。

【請求項 4】

前記バリアフィルタは、前記像形成光学系の結像レンズとこの結像レンズにより結像する像を検出する受光器の間に配置されたことを特徴とする請求項 3 記載のバイオチップ読取装置。

【請求項 5】

ケーラー照明における光源による励起光照射角が±5度以内になるように構成したことを特徴とする請求項3記載のバイオチップ読取装置。

【請求項6】

互いに波長の異なる複数の励起光を発生する光源アレイを用いて試料を照射するとき、試料に対して入射角 $\gamma$ で入射する励起光による反射励起光を受けるバリアフィルタは前記試料面に対して角度 $\gamma$ だけ傾けて配置されるようにしたことを特徴とする請求項3または4記載のバイオチップ読取装置。

【請求項7】

試料に励起光を照射し、試料中の蛍光物質から発生する蛍光を像形成光学系を介して結像し、その像を受光器で読取るように構成したバイオチップ読取装置において、

前記像形成光学系の結像レンズは、平凸型に形成されると共にその平面側に蛍光用干渉膜が形成されたレンズであることを特徴とするバイオチップ読取装置。

【請求項8】

試料に励起光を照射し、試料中の蛍光物質から発生する蛍光を像形成光学系を介して結像し、その像を受光器で読取るように構成したバイオチップ読取装置において、

前記像形成光学系内に、前記励起光のビーム径とほぼ等しい面積を有し対物レンズにより収束した励起光を遮光する遮光部材を取付け、受光器側への励起光の混入を防止するようにしたことを特徴とするバイオチップ読取装置。

【請求項9】

試料に励起光を照射し、試料中の蛍光物質から発生する蛍光を像形成光学系を介して結像し、その像を受光器で読取るように構成したバイオチップ読取装置において、

前記像形成光学系内に、前記励起光のビーム径とほぼ等しい面積を有し対物レンズにより収束した励起光を反射するミラーを取付け、受光器側への励起光の混入を防止するようにしたことを特徴とするバイオチップ読取装置。

【請求項10】

試料に励起光を照射し、試料中の蛍光物質から発生する蛍光を像形成光学系を

介して結像し、その像を受光器で読取るように構成した透過型のバイオチップ読取装置において、

前記蛍光物質からの蛍光は透過するが試料を透過した励起光は減衰する作用効果を有するバリアフィルタを、このバリアフィルタに対して前記試料を透過した励起光が±5度以内の入射角で入射するように前記像形成光学系内の試料と対物レンズの間または前記受光器の直前あるいはその両方の位置に配置したことを特徴とするバイオチップ読取装置。

【請求項 1 1】

レーザ等のコヒーレント光を励起光としてバイオチップの各セルに照射し、バイオチップの各セルの試料から発生する蛍光を読取るようにしたバイオチップ読取装置において、

複数のマイクロレンズが配置され回転可能に形成された回転板と、

2次元状に配列された受光素子により前記バイオチップの蛍光像を受光する2次元状の受光器と、

前記バイオチップからの蛍光を受けて受光器面に結像する結像光学系中に配置されたバリアフィルタ

を具備し、前記回転板を回転し前記複数のマイクロレンズで個別に集光された励起光ビームにより光走査し、前記バイオチップの各セルが個別に照射されると共に、受光器側に入射する前記励起光がバリアフィルタに対して±5度以下の入射角で入射するように構成したことを特徴とするバイオチップ読取装置。

【請求項 1 2】

光源からの励起光を複数のマイクロレンズを介してバイオチップの複数のセルにそれぞれ照射し、前記複数のセル内に注入された蛍光物質付着の試料からの蛍光画像情報を検出器により読取るバイオチップ読取装置であって、

前記光源は、光強度の強い部位と光強度の弱い部位から成る励起光を発生するように構成され、

前記バイオチップは、試料の発現量が光強度の強い部位のものほど少なく光強度の弱い部位のものほど多くなるように、各セルの試料が配置されて成ることを特徴とするバイオチップ読取装置。

【請求項 1 3】

前記光源は、中央が強く周辺が弱い光強度分布を呈する励起光を発生するように構成されたことを特徴とする請求項 1 2 記載のバイオチップ読取装置。

【請求項 1 4】

前記光源と試料の間に、励起光の一部を遮光または減光するマスクを配置したことを特徴とする請求項 1 2 または 1 3 記載のバイオチップ読取装置。

【請求項 1 5】

前記バイオチップの発現量に対応して前記光源からの励起光の光強度分布を変化させるズーム機構部を備えたことを特徴とする請求項 1 2 から 1 4 記載のバイオチップ読取装置。

【請求項 1 6】

光源からの励起光を複数のマイクロレンズを介してバイオチップの複数のセルにそれぞれ照射し、前記複数のセル内に注入された蛍光物質付着の試料からの蛍光画像情報を検出器により読取るバイオチップ読取装置であって、

前記検出器は、出力が入力値の対数値となる特性を有する受光素子から構成されたことを特徴とするバイオチップ読取装置。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】

本発明は、バイオチップ読取装置に係り、特にレーザ等のコヒーレント光源を励起光として使用したバイオチップ読取装置に関するものである。

【0 0 0 2】

【従来の技術】

図 1 7 は、新しい光学顕微鏡 第二巻 「共焦点レーザ顕微鏡の医学・生物学への応用」 学際企画株式会社 1 9 9 5 年 3 月 2 8 日発行 P 1 3 2 ~ 1 3 3 に記載の共焦点光学系に基づく原理構成図である。

【0 0 0 3】

このような原理構成図に基づいたバイオチップ読取装置では、遮光板 2 に設けられたピンホール P H を介して出射された光源 1 からのレーザ光がレンズ 3 によ

り平行光となりダイクロイックミラー 4 を透過して対物レンズ 5 に入射する。対物レンズ 5 はこの励起光を集光してサンプル（バイオチップ） 6 を照射する。

【 0 0 0 4 】

バイオチップ 6 の試料に付着された蛍光物質は励起光に励起されて発光し、その蛍光は対物レンズ 5 を介してダイクロイックミラー 4 で反射された後、集光レンズ 7 により絞られて遮光板 8 に設けられたピンホール P H 上に結像する。この像はサンプル 6 の蛍光像であり、受光器 9 により検出される。

【 0 0 0 5 】

サンプル 6 面の蛍光像（2 次元像）を観測するにはサンプル 6 面上を励起光で走査する必要がある。この場合、通常、励起光側を走査するのではなく、サンプル 6 を載置したステージ（図示せず）側を光軸とは直角な方向に走査（ステージスキャンと言う）する。

【 0 0 0 6 】

このようなバイオチップ読取装置では、光源として白色光を用いると光量不足となるためレーザ光が用いられている。また、ピンホールを用いて共焦点型としたことにより、検出像にはサンプル 6 に付着したゴミの影響が出ないと共に、励起光を絞ってサンプルに照射しているためスペックルノイズも生じないようになっている。

【 0 0 0 7 】

また、図 1 8 は従来のバイオチップ読取装置の他の一例を示す原理構成図である。このような原理は、例えば、実験医学別冊 ポストゲノム時代の実験講座 3

「G F P とバイオイメージング」株式会社羊土社 2 0 0 0 年 1 0 月 2 5 日発行 P 1 5 8 に記載されている。

【 0 0 0 8 】

図 1 8 において、レーザ等の平行光光源（図示せず）からの励起光は集光レンズ 1 1 で絞られ、その後ダイクロイックミラー 1 2 で反射して対物レンズ 1 3 に入射する。このとき、励起光は対物レンズ 1 3 の焦点距離  $f$  の位置に結像し、これが第 2 光源となって対物レンズ 1 3 に入射する。

【 0 0 0 9 】



サンプル 14 は対物レンズ 13 を透過した励起光で照射される。サンプルとしては例えば表面が平坦なスライドガラス上に DNA を配置した DNA チップ等である。DNA チップの各サイト 15 では、標識した DNA の蛍光物質が励起光により励起されて蛍光を発する。

#### 【0010】

その蛍光は、像形成光学系を介して受光器 18 上に結像する。すなわち、蛍光は実線で示すように対物レンズ 13 により平行光となってダイクロイックミラー 12 およびバリアフィルタ 16 を通過してレンズ 17 に入射する。レンズ 17 により結像したサンプル 14 の像は受光器 18 で検出される。

#### 【0011】

この場合、サンプル面の全面にわたって照射された励起光の振舞を考察すると次の通りである。破線で示すように平面が平坦な試料面で反射した励起光（この励起光を反射励起光あるいは戻り励起光と呼ぶ）は、対物レンズ 13 で絞られ焦点距離  $f$  の位置に収束する。そしてこの焦点位置を中間像面とするレンズ 17 を通って受光器 18 に入る。

#### 【0012】

なお、反射励起光はレンズ 17 を通る前にダイクロイックミラー 12 とバリアフィルタ 16 を透過する。バリアフィルタ 16 は蛍光は通すが反射励起光は除去（減衰）するように形成されており、このバリアフィルタ 16 を通すことにより背景光として受光器 18 へ混入する反射励起光を低減している。

#### 【0013】

また、図 19 は本願出願人が出願した特願 2001-2264 号「バイオチップ読取り装置」に記載のマイクロレンズアレイ方式のバイオチップ読取装置の原理構成図である。

#### 【0014】

図 19 において、マイクロレンズアレイ 21 には複数のマイクロレンズ ML が配列されており、各マイクロレンズを通った光（励起光）はダイクロイックミラー 22 を介してサンプル 23 に照射される。サンプル 23 はバイオチップであり、そのバイオチップの各セルには試料が注入されるが、その各セルは前記各マイ

クロレンズと同一ピッチで配置されており、各マイクロレンズからの励起光が各セルをそれぞれ照射するような空間配置となっている。

## 【0015】

バイオチップの試料には蛍光物質が付加されていて、励起光照射により蛍光物質が発光する。発光した蛍光はダイクロイックミラー22で反射され、バリアフィルタ24を介してレンズ25に入り、このレンズ25により受光器（例えばカメラ等）26上に結像する。このようにしてバイオチップの蛍光像をカメラ26で観測することができる。

## 【0016】

なお、バリアフィルタ24は、蛍光は透過させるが励起光は除去するという作用効果を有するもので、このフィルタの使用によりサンプル23表面で反射した励起光がカメラ26に入射するのを防止することができる。

## 【0017】

## 【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、このような従来のバイオチップ読取装置には次のような課題があった。

(1) 図17に示すバイオチップ読取装置では、ピンホール等の調整が大変であり、また高価にもなるという課題があった。さらに、ステージは走査を行なうために耐久性が要求され、高価になるという欠点もあった。

## 【0018】

(2) 図18に示す装置では、バリアフィルタで反射励起光を減衰するものの十分な減衰は得られなかった。蛍光分子測定等においては背景光を $10^{-9}$ 程度まで落とす必要があるが、この装置では $10^{-7}$ 程度の減衰率しか得られず、明らかに減衰不足であるという課題があった。

## 【0019】

(3) 図19に示すバイオチップ読取装置では、光源からの励起光にシェーディング（山形の光強度分布）があると読取データにムラができる。それを解決するために中央部だけを使用することによりシェーディング量を小さくして図示のように最高値に対する最低値の割合 $\alpha$ を10～20%にすると、周辺部の光を捨て

ることになるため光の無駄が大きくなる（光の利用効率が悪くなる）という問題がある。

#### 【0020】

また、バイオチップにおける mRNA の発現を cDNA で測定する場合は、その発現量に大幅な違いがあり、次のような課題があった。例えば、図 20 (a) に示す遺伝子 A と遺伝子 B の発現量に同図 (b) のように 10 ～ 100 倍もの違いがある場合、発現量をそのまま精度良く測定しようとする、検出器内に使用のアナログ・デジタル変換器や増幅器に大きなダイナミックレンジと高精度が要求され、高価になるという問題があった。

#### 【0021】

また、アナログ・デジタル変換器や増幅器のゲインを変えて複数回測定する方式も考えられるが、この方式では測定時間がかかり、測定値のばらつきやバイオチップの退色も大きくなるという問題があった。

#### 【0022】

本発明の目的は、上記の課題を解決するもので、小型・安価で、耐久性に富むバイオチップ読取装置を提供することにある。

本発明の他の目的は、背景光となる反射励起光を十分に減衰することのできるバイオチップ読取装置を提供することにある。

本発明の更に他の目的は、光の利用効率を高め、安価で低精度のアナログ・デジタル変換機や増幅器の使用によっても高精度に試料を測定できるバイオチップ読取装置を提供することにある。

#### 【0023】

##### 【課題を解決するための手段】

このような目的を達成するために、請求項 1 の発明では、

レーザ等のコヒーレント光を励起光としてバイオチップの各セルに照射し、バイオチップの各セルの試料から発生する蛍光を読取るようにしたバイオチップ読取装置において、

複数のマイクロレンズが配置され回転可能に形成された回転板と、

2 次元状に配列された受光素子により前記バイオチップの蛍光像を受光する 2

## 次元状の受光器

を具備し、前記回転板を回転し前記複数のマイクロレンズで個別に集光された励起光ビームにより光走査し、前記バイオチップの各セルが個別に照射されるように構成したことを特徴とする。

## 【 0 0 2 4 】

このような構成により、マイクロレンズにより励起光を絞っているため試料像にはスペックルノイズが生じない。また、共焦点ではなくピンホールを使用しない構成のため、従来の共焦点型のバイオチップ読取装置に比べて調整箇所が少なく製作が楽である。さらに、光走査であるためステージを移動する移動機構が不要であり、耐久性に優れ、かつ小型・安価なバイオチップ読取装置を容易に作製できる。

この場合、請求項 2 のように透過型または反射型のいずれにも適用できる。

## 【 0 0 2 5 】

請求項 3 の発明では、

表面が平坦な試料に励起光を照射し、試料中の蛍光物質から発生する蛍光を像形成光学系を介して結像し、その像を受光器で読取るように構成したバイオチップ読取装置において、

前記試料面からの蛍光は透過するが試料から反射した励起光は減衰する作用効果を有するバリアフィルタを、試料から反射した励起光が  $\pm 5$  度以内の入射角で入射するように前記像形成光学系内に配置したことを特徴とする。

## 【 0 0 2 6 】

本発明では、反射励起光がバリアフィルタに  $\pm 5$  度以内の入射角で入射するため、反射励起光はバリアフィルタで  $10^{-9}$  程度に減衰され、受光器での観察像にとっては問題とならない程度の背景光としかならない。

## 【 0 0 2 7 】

この場合、バリアフィルタの取付け位置は、請求項 4 のように前記像形成光学系内の結像レンズと受光器の間に配置される。また、ケーラー照明における第 2 光源による励起光照射角は、請求項 5 のように  $\pm 5$  度以内に設定する。

## 【 0 0 2 8 】

また、請求項6のように、複数の光源を用いて、各光源に対応して複数の像を結像させる場合、試料に対して入射角 $\gamma$ で入射する励起光による反射励起光を受けるバリアフィルタは試料面に対して角度 $\gamma$ だけ傾けて配置する。これにより、いずれのバリアフィルタにも反射励起光は $\pm 5$ 度以内の入射角で入射でき、十分な減衰率を得ることができる。

## 【0029】

請求項7の発明では、試料に励起光を照射し、試料中の蛍光物質から発生する蛍光を像形成光学系を介して結像し、その像を受光器で読取るように構成したバイオチップ読取装置において、前記像形成光学系の結像レンズとして、平凸型に形成されると共にその平面側に蛍光用干渉膜が形成されたレンズを用いる。

## 【0030】

このようなレンズを用いれば、バリアフィルタと同等の作用効果を簡単かつ小型で安価に実現することができる。

## 【0031】

また、請求項8の発明では、

試料に励起光を照射し、試料中の蛍光物質から発生する蛍光を像形成光学系を介して結像し、その像を受光器で読取るように構成したバイオチップ読取装置において、前記像形成光学系内に、前記励起光のビーム径とほぼ等しい面積を有し対物レンズにより収束した励起光を遮光する遮光部材を取付け、受光器側への励起光の混入を防止するようにしたことを特徴とする。

## 【0032】

このような構成によれば、対物レンズにより収束した反射励起光を遮光部材で遮光することにより、バリアフィルタを用いなくても受光器の背景光を容易に除去することができる。この場合、像形成光学系内の遮光部材は小片であるため、蛍光像形成に大きな影響を与えることはない。

## 【0033】

また、請求項9の発明では、試料に励起光を照射し、試料中の蛍光物質から発生する蛍光を像形成光学系を介して結像し、その像を受光器で読取るように構成したバイオチップ読取装置において、前記像形成光学系内に、前記励起光のビー

ム径とほぼ等しい面積を有し対物レンズにより収束した反射励起光を反射するミラーを取付け、受光器側への反射励起光の混入を防止するようにしたことを特徴とする。

## 【 0 0 3 4 】

このような構成によれば、対物レンズにより収束した反射励起光をミラーで反射することにより、バリアフィルタを用いなくても受光器の背景光を容易に除去することができる。この場合、像形成光学系内のミラーは小片であるため、蛍光像形成に大きな影響を与えることはない。

## 【 0 0 3 5 】

また、請求項 1 0 の発明では、試料に励起光を照射し、試料中の蛍光物質から発生する蛍光を像形成光学系を介して結像し、その像を受光器で読取るように構成した透過型のバイオチップ読取装置において、前記試料と対物レンズの間と、前記受光器の直前との両方あるいはいずれか一方に上記と同様の作用効果を有するバリアフィルタを配置し、このバリアフィルタに対して試料を透過した励起光が±5度以内の入射角で入射するようにしたことを特徴とする。

## 【 0 0 3 6 】

このような構成によれば、透過型の装置においても、容易にバリアフィルタで透過励起光の十分な減衰ができ、観測像の背景光を十分少なくすることができる。

## 【 0 0 3 7 】

また、請求項 1 1 の発明では、レーザ等のコヒーレント光を励起光としてバイオチップの各セルに照射し、バイオチップの各セルの試料から発生する蛍光を読取るようにしたバイオチップ読取装置において、複数のマイクロレンズが配置され回転可能に形成された回転板と、2次元状に配列された受光素子により前記バイオチップの蛍光像を受光する2次元状の受光器と、前記バイオチップからの蛍光を受けて受光器面に結像する結像光学系中に配置されたバリアフィルタを具備し、前記回転板を回転し前記複数のマイクロレンズで個別に集光された励起光ビームにより光走査し、前記バイオチップの各セルが個別に照射されると共に、受光器側に入射する前記励起光がバリアフィルタに対して±5度以下の入射角で入

射するように構成したことを特徴とする。

## 【 0 0 3 8 】

このような構成においても励起光はバリアフィルタに対して±5度以下の入射角で入射するため、励起光が受光器側へ背景光として混入するのを容易に防止することができる。

## 【 0 0 3 9 】

請求項12の発明では、光源からの励起光を複数のマイクロレンズを介してバイオチップの複数のセルにそれぞれ照射し、前記複数のセル内に注入された蛍光物質付着の試料からの蛍光画像情報を検出器により読取るバイオチップ読取装置であって、前記光源は、光強度の強い部位と光強度の弱い部位から成る励起光を発生するように構成され、前記バイオチップは、試料の発現量が光強度の強い部位のものほど少なく光強度の弱い部位のものほど多くなるように、各セルの試料が配置されて成ることを特徴とする。

## 【 0 0 4 0 】

このような構成によれば、発現量のより少ない試料にはより強い光強度の励起光が照射され、発現量のより多い試料にはより弱い光強度の励起光が照射されるため、検出器で受光する各試料からの蛍光量に大きな差はなくなる。

これにより検出器側のアナログ・デジタル変換器や増幅器には、従来のような大きなダイナミックレンジや高精度は要求されなくなる。

## 【 0 0 4 1 】

この場合、光強度分布を、請求項13のように中央が強く周辺が弱くなるようにしても構わない。

また、請求項14のように、光源と試料の間に励起光の一部を遮光または減光するマスクを配置してもよい。このようにマスクを使用して励起光の一部だけを用いるようにすると、バイオチップ上での試料の配置の自由度が向上する。

## 【 0 0 4 2 】

また、請求項15のように前記光源にズーム機構部を備え、バイオチップの発現量に対応して前記光源からの励起光の光強度分布を変化させるようにすることもできる。

このようにすると、発現量分布の異なるバイオチップにもそれぞれ容易に対応することができる。

## 【 0 0 4 3 】

請求項 1 6 の発明は、光源からの励起光を複数のマイクロレンズを介してバイオチップの複数のセルにそれぞれ照射し、前記複数のセル内に注入された蛍光物質付着の試料からの蛍光画像情報を検出器により読取るバイオチップ読取装置であって、

前記検出器は、出力が入力値の対数値となる特性を有する受光素子から構成されたことを特徴とする。

## 【 0 0 4 4 】

このような構成によれば、検出器における受光素子出力を受けるアナログ・デジタル変換器や増幅器の飽和を未然に防止することができ、容易に請求項 1 の発明と同等の効果を得ることができる。

## 【 0 0 4 5 】

## 【発明の実施の形態】

以下図面を用いて本発明を詳しく説明する。図 1 は本発明に係るバイオチップ読取装置の一実施例を示す要部構成図である。

## 【 0 0 4 6 】

図 1 において、3 1 はレーザ等のコヒーレント光（以下レーザ光という）を励起光として発生する光源、3 2 はそのレーザ光を平行光にするレンズ、3 3 はマイクロレンズアレイである。マイクロレンズアレイ 3 3 は、複数のマイクロレンズ ML を配列したもので、回転板 3 4 に取付けられている。

## 【 0 0 4 7 】

3 5 は回転板 3 4 を回転させるモータ、3 6 はサンプル、3 7 はレンズ、3 8 はバリアフィルタ、3 9 は集光レンズ、4 0 は受光素子として CCD 等を用いたカメラである。

## 【 0 0 4 8 】

光源 3 1 から出射されたレーザ光はレンズ 3 2 により平行光となってマイクロレンズアレイ 3 3 に入射する。各マイクロレンズ ML はそれぞれレーザ光を集光



してサンプル 3 6 を照射する。サンプル 3 6 には、複数のセルが 2 次元状配置され、各セル内には試料が注入される構造となっている。

## 【 0 0 4 9 】

モータ 3 5 により回転板 3 4 を回転させると、各マイクロレンズ ML で絞られた励起光ビームがサンプル 3 6 上を走査する。マイクロレンズ ML は、その各ビームがサンプルの各セルを個別に走査できるような空間位置関係で回転板 3 4 上に配置されている。

## 【 0 0 5 0 】

各試料からの蛍光は、レンズ 3 7 に入射した後バリアフィルタ 3 8 を介してレンズ 3 9 に入射する。バリアフィルタ 3 8 は、サンプル 3 6 からの蛍光は通すがサンプル 3 6 を通って入って来た励起光は減衰させる作用効果を有するもので、試料像の背景光を除去するために使用される。

レンズ 3 9 により集光し結像した試料像は、カメラ 4 0 の受光素子（図示せず）により受像される。

## 【 0 0 5 1 】

このような構成により、複数のマイクロレンズによりマルチビームを得て、そのビームでサンプルを走査しサンプルの 2 次元像を容易に得ることができる。

なお、サンプルに付着するゴミはカートリッジ等を使用すると激減できるため、従来のように共焦点型の読取装置にしくなくてもよい。ただし、励起光の光量は必要である。本発明では励起光としてレーザ光を用いているため、高輝度で十分な光量が得られる。

## 【 0 0 5 2 】

また、本発明ではマイクロレンズにより励起光を絞っているため試料像にはスペックルノイズが生じない。また、従来のようにピンホールを使用しないので調整が楽であり、さらには光走査のためにステージを移動させる移動機構も不要のため耐久性に富み小型で安価な装置が容易に実現できる。

## 【 0 0 5 3 】

図 2 は本発明の他の実施例を示す要部構成図である。図 1 のバイオチップ読取装置は透過型であるが、図 2 は反射型の場合である。マイクロレンズアレイ 3 3

とサンプル36の間にダイクロイックミラー41を配置し、サンプル36で発光した蛍光をこのダイクロイックミラー41で反射させレンズ39に入れる。レンズ39はこの蛍光を集光してカメラ40の受光素子面に結像する。その他の構成や動作は図1に同じである。

## 【0054】

以上の実施例のような本発明によれば次のような効果がある。

(1) サンプルの各試料を照射する励起光ビームはマイクロレンズにより絞られたビームであるため、試料の観測画像にスペックルノイズは発生しない。

(2) 共焦点型でなくピンホールを使用しないため、従来の共焦点型のバイオチップ読取装置に比べて調整箇所が少なく製作が楽である。

(3) 従来のように光走査のためにサンプルを載置したステージを移動させる必要がなく、耐久性に優れ、かつ小型・安価なバイオチップ読取装置を容易に作製することができる。

## 【0055】

図3は励起光を±5度以下の入射角でバリアフィルタに入射させる本発明の他の実施例図である。図18の従来例との違いは、バリアフィルタの配置位置である。図3においてはレンズ17と受光器18の間にバリアフィルタ16を配置してある。

## 【0056】

バリアフィルタ16の減衰率（入射光強度に対する出射光強度の比）は図4に示すように光の入射角に依存し、 $10^{-7}$ 以上の減衰率を得るにはバリアフィルタへの入射角を±5度(deg)以下にする必要がある。

## 【0057】

なお、図4に示すデータは平行なレーザ光を用いてバリアフィルタを測定した例である。一般の分光光度計では発散または収束光を用いるため、このような値は得られない。

## 【0058】

バリアフィルタ16のこのような配置により、励起光は±5度以下の入射角でバリアフィルタ16に入射するため、ほぼ $10^{-9}$ 程度減衰する。そのため、受

光器 1 8 面での観測像の背景光は十分に少なくなる。

【0059】

なお、本発明は上記実施例に限定されない。例えば、以下のような構成を採用することもできる。

(1) 光源像の大きさに係る場合

図 5 に白色光等の非レーザ光を用いた場合のケーラー照明系の要部構成図を示す。光源 5 1 (光源の直径が  $a$ ) からの光が集光レンズ 1 1 に入射して直径  $a'$  の第 2 光源 5 2 を作る。この第 2 光源 5 2 によりサンプル 1 4 は照射される。このときのサンプル 1 4 を照射する励起光の角度 (ここではこの角度を照射角と呼ぶ)  $\beta$  は第 2 光源 5 2 の直径に対応する。

【0060】

透過型や反射型の顕微鏡ではケーラー照明で大きな角度  $\beta$  がないと必要十分な分解能は得られない。蛍光顕微鏡の場合も同様に光源像 5 2 の直径  $a'$  は元の光源 5 1 の直径  $a$  の 1 0 倍程度に拡大され、角度  $\beta$  を大きくしている。

【0061】

しかし、角度  $\beta$  を大きくするとバリアフィルタ 1 6 への入射角も大きくなり、励起光の減衰率を低下させるため、角度  $\beta$  には限度がある。光源像と対物レンズ 1 3 の焦点距離  $f$  の間には、次の関係がある。

$$a' / 2 = f \beta$$

すなわち、

$$\beta = a' / (2 f)$$

ここに、 $f$  は対物レンズ 3 の焦点距離

【0062】

十分な減衰率を得るためには、 $\beta$  を  $\pm 5$  度以下にする必要がある。 $\pm 5$  度以下に抑えるには、例えば光源の大きさあるいは励起光学系の焦点距離  $f'$  等を調節すればよい。

【0063】

(2) 光源アレイの場合

図 6 は緑色 G と赤色 R のように波長の異なる 2 つの光源からなる光源アレイを

使用した場合の構成図である。G光源はレンズ11から距離 $f'$ の位置の光軸上に置かれ、R光源はその位置で光軸より $b$ だけ離れた所に置かれている。このような配置では、水平に置かれた試料面に対して、G光源からの光は垂直に入り、他方のR光源からの光は照射角 $\gamma$  ( $= f' \cdot b$ ) で入る。

## 【0064】

試料面で反射した励起光は対物レンズ3およびダイクロイックミラー12を透過した後、短波長側（G光源側）の光は第2のダイクロイックミラー12aで反射し、他方の長波長側（R光源側）の光は第2のダイクロイックミラー12aを透過する。

## 【0065】

そして前者は結像レンズ17とバリアフィルタ16を介して受光器18上に結像し、後者は結像レンズ17aとバリアフィルタ16aを介して受光器18a上に結像する。

## 【0066】

この場合、バリアフィルタ16aを水平に取付けているとR光源の反射励起光は $\gamma$ 度傾いた角度で入射する。そこで直角に入射するようにバリアフィルタ16aを水平面から $\gamma$ 度傾けて配置する。

これにより、試料面での反射励起光はいずれもバリアフィルタ16, 16aに直角に入射することになり、それぞれ十分に減衰される。

## 【0067】

## (3) 結像レンズに係る変形例

図7は結像レンズの要部構成図である。バリアフィルタの機能と結像レンズの機能を併せ持つ蛍光フィルタ付レンズ60を用いた場合の例である。

この蛍光フィルタ付レンズ60は、平凸レンズ61の平面側に蛍光用干渉膜62を貼り付けたものであり、この干渉膜62により反射励起光をバリアフィルタと同様に減衰させるものである。

## 【0068】

## (4) ポイントマスク型への変形例

図8に示すように、試料からの反射励起光が対物レンズ13により収束する箇

所に遮光部材 7 1 を配置して反射励起光をカットする。遮光部材 7 1 は例えば透明板あるいは水平方向へ放射状に伸びた 3 本の支柱等で支える。

#### 【 0 0 6 9 】

遮光部材 7 1 の直径  $\phi$  が  $1.22\lambda/NA$  (ただし、 $\lambda$  は励起光の波長、 $NA$  は対物レンズ 1 3 の開口数) 程度であれば (換言すれば励起光のビーム径とほぼ等しい面積であれば)、80% 以上反射励起光をカットできる。この場合、上記実施例におけるようなバリアフィルタを用いなくてよい。あるいは、減衰率の低い安価なフィルタを用いてもよい。

#### 【 0 0 7 0 】

##### (5) ポイントミラー型への変形例

上記実施例に示すダイクロイックミラーの代わりに、図 9 に示すようにケーラー照明の第 2 光源部に小片のミラー 7 2 を配置する。このミラー 7 2 は、励起光のビーム径とほぼ等しい面積を有していて、ダイクロイックミラーと同様に光源 8 1 からの励起光を反射し、サンプル 1 4 を照射すると共に対物レンズ 1 3 で絞られた反射励起光も光源側へ反射する。したがって、反射励起光は受光器 (図示せず) へは入らない。

なお、ミラー 7 2 は透明基板や支柱による支持体 7 3 により保持され、その取付け位置と角度が維持される。

#### 【 0 0 7 1 】

##### (6) 透過蛍光型の場合

図 1 0 は透過型蛍光読取方式のバイオチップ読取装置の一実施例図である。この場合も同様にバリアフィルタを用いて透過励起光を減衰させることができる。バリアフィルタ 9 4、9 7 を、サンプル 9 3 と対物レンズ 9 5 との間と、結像レンズ 9 6 と受光器 1 8 との間にそれぞれ配置する。なお、バリアフィルタはいずれか一方だけにしても差し支えない。

なお、この場合、対物レンズ 9 5 と結像レンズ 9 6 とはテレセントリック系になっている。

#### 【 0 0 7 2 】

図 1 1 は図 1 に示す構成においてバリアフィルタ 3 8 をレンズ 3 9 とカメラ 4

0 の間に配置したものである。サンプル 3 6 を透過した励起光は、図 1 1 中に点線で示すように、ほぼ平行な光でレンズ 3 7, 3 9 から成る結像光学系に入射した後、カメラ 4 0 に対してはほぼ平行な光で入射する。

このとき励起光は、 $\pm 5$  度以下の入射角でバリアフィルタ 3 8 に入射し、ほぼ  $10^{-7}$  以上減衰する。

#### 【0073】

このような実施例によれば次のような効果がある。

(1) 励起光をバリアフィルタに  $\pm 5$  度以内の入射角で入射させるようにしたため、容易に励起光を減衰させることができる。

(2) 結像レンズを平凸レンズとし、これに蛍光用干渉膜を貼り付けることにより、バリアフィルタを用いることなく、バリアフィルタを用いたのと同等の作用効果を容易に実現することができる。

#### 【0074】

(3) 対物レンズにより絞られた反射励起光ビームを遮光または反射させるため、バリアフィルタを用いなくても受光器への反射励起光の混入を容易に防止することができる。

(4) 透過型の蛍光読取方式のバイオチップ読取装置においてもバリアフィルタを配置して受光器に入る励起光を容易に減衰させることができる。

#### 【0075】

また、従来例の図 1 9 および図 2 0 で指摘した問題に対する解決策としては、次のような構成とするのが望ましい。光源から光強度の強い部位と光強度の弱い部位から成る励起光を発生させると共に、その励起光のシェーディングを故意に大きくする。

#### 【0076】

例えば図 1 2 に示すように励起光を中央が強く周辺が弱い光強度パターンとなるようにし、その平行光の有効範囲 R 内における光強度 I の最高値に対する最低値の割合  $\alpha$  を 90 % 程度にする。このような光強度分布の励起光はマイクロレンズアレイ 2 1 およびダイクロイックミラー 2 2 を介して同様の光強度分布パターンでサンプル 2 3 を照射する。

## 【 0 0 7 7 】

一方、サンプル 2 3 においては、図 1 3 に示すように発現量の多い試料ほど外側のセルへ、発現量の少ない試料ほど内側のセルへ配置し、発現量分布が励起光の強度分布とは逆のパターンとなるような配置にする。

## 【 0 0 7 8 】

励起光の光強度分布と試料の発現量分布をこのような関係にすると、発現量の少ない試料、換言すれば蛍光の少ない試料には強い光強度の励起光が照射され、発現量の多い換言すれば蛍光の多い試料には弱い光強度の励起光が照射される。

## 【 0 0 7 9 】

これにより、発現量に大きな差があっても検出器に入射する各試料からの蛍光にはあまり差がなくなり、したがって検出器内のアナログ・デジタル変換器や増幅器には大きなダイナミックレンジや高精度は要求されず、低精度で安価なものを使用することができる。なお、励起光分布は別途測定しておき、試料からの蛍光は、その励起光分布によって補正して用いる。

## 【 0 0 8 0 】

なお、本発明は上記実施例に限定されるものではない。例えば、図 1 4 に示すように遮光または減光のマスク 1 0 0 を用いて励起光の一部だけを用いると、バイオチップに照射される励起光は図示のような光強度分布となる。このように、遮光または減光パターン（ここでは濃度パターンとも言う）を持つマスクを使用すれば、バイオチップ上の試料の配置の自由度が格段に向上する。

## 【 0 0 8 1 】

また、図 1 5 に示すように励起光のシェーディング量を可変にするように構成しても構わない。同図において、図 1 2 の構成と異なる点はズーム機構部である。ズーム機構部 1 1 0 は通常のズームレンズを使用した機構であり、光源（図示せず）からの平行光ビームを適宜に拡大または縮小してマイクロレンズアレイ 2 1 に与える。

## 【 0 0 8 2 】

ズーム機構部 1 1 0 でビームを拡大すると、光源から出射された励起光の光強度分布パターンが横に広がってマイクロレンズアレイ 2 1 に入射する励起光の強

度分布パターンはより平坦なパターンとなる。逆に縮小するとより急峻なパターンとなる。

【0083】

このように拡大・縮小によりシェーディング量が変化するので、ズーム機構部 110 を操作することによりサンプル 23 に応じてシェーディング量を任意に設定することができる。

【0084】

また、励起光の光強度分布やサンプルの試料の配置は変えないで、入出力特性が図 16 に示すような対数関係にある受光素子で構成された検出器を用いてサンプルの蛍光像を検出する構成としてもよい。

このような構成によれば、入力（蛍光量）に大きな違いがあっても検出器側のアナログ・デジタル変換器や増幅器での飽和は防止でき、アナログ・デジタル変換器や増幅器には大きなダイナミックレンジと高精度は要求されなくなる。

【0085】

以上説明した実施例の発明によれば、バイオチップの各試料の発現量に大きな差があっても検出器には大きなダイナミックレンジや高精度は要求されず、安価で低精度のアナログ・デジタル変換器や増幅器を使用した検出器で満足の行く試料像を検出することができる。

また、光源の光強度分布のシェーディング量を大きくできるため、光量の大幅な効率アップが図れるという効果もある。

【0086】

【発明の効果】

以上説明したように本発明によれば次のような効果がある。

(1) 請求項 1 に記載の発明によれば、試料像にはスペckルノイズが生ぜず、調整箇所が少ないため製作が楽であり、耐久性に優れ、かつ小型・安価なバイオチップ読取装置を容易に作製できる。

【0087】

(2) 請求項 3 に記載の発明によれば、反射励起光がバリアフィルタに  $\pm 5$  度以内の入射角で入射するため、容易に反射励起光をバリアフィルタで  $10^{-9}$  程度



に減衰することができ、反射励起光を受光器での観察像にとって問題とならない程度の背景光とすることができる。

【0088】

(3) 請求項7に記載の発明によれば、バリアフィルタと同等の作用効果を簡単かつ小型で安価に実現することができる。

【0089】

(4) 請求項8に記載の発明によれば、反射励起光を遮光部材で遮光することにより、バリアフィルタを用いなくても受光器の背景光を容易に除去することができる。また、請求項9に記載の発明によれば、反射励起光をミラーで反射することにより、バリアフィルタを用いなくても受光器の背景光を容易に除去することができる。

【0090】

(5) 請求項10に記載の発明によれば、透過型の装置においても、容易にバリアフィルタで透過励起光の十分な減衰ができ、観測像の背景光を十分少なくすることができる。

【0091】

(6) 請求項11に記載の発明によれば、請求項1に記載の発明においてもバリアフィルタを用いることにより励起光が受光器側へ背景光として混入するのを容易に防止することができる。

【0092】

(7) 請求項12に記載の発明によれば、検出器で受光する各試料からの蛍光量に大きな差はなくなり、検出器側のアナログ・デジタル変換器や増幅器には、従来のような大きなダイナミックレンジや高精度は要求されなくなる。

【0093】

(8) 請求項16に記載の発明によれば、検出器における受光素子出力を受けるアナログ・デジタル変換器や増幅器の飽和を未然に防止ことができ、容易に請求項1に記載の発明と同等の効果を得ることができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】

本発明に係るバイオチップ読取装置の一実施例を示す要部構成図である。

【図 2】

本発明の他の実施例を示す要部構成図である。

【図 3】

本発明の更に他の実施例を示す要部構成図である。

【図 4】

バリアフィルタの減衰率特性図である。

【図 5】

本発明のバイオチップ読取装置の他の一例を示す要部構成図である。

【図 6】

光源アレイを用いた場合の説明図である。

【図 7】

結像用のレンズの他の実施例を示す構成図である。

【図 8】

遮光部材を用いた場合の構成図である。

【図 9】

ミラーを用いた場合の構成図である。

【図 1 0】

透過型蛍光読取方式のバイオチップ読取装置に係る一実施例構成図である。

【図 1 1】

本発明の他の実施例を示す要部構成図である。

【図 1 2】

本発明の更に他の実施例を示す要部構成図である。

【図 1 3】

試料の配置の様子を説明するための図である。

【図 1 4】

本発明の他の実施例を示す要部構成図である。

【図 1 5】

本発明の他の実施例を示す要部構成図である。

【図 1 6】

検出素子の入出力特性を示す図である。

【図 1 7】

従来のバイオチップ読取装置の原理構成図である。

【図 1 8】

従来のバイオチップ読取装置の他の一例を示す原理構成図である。

【図 1 9】

従来のバイオチップ読取装置の更に他の一例を示す原理構成図である。

【図 2 0】

バイオチップと試料の発現量の差についての説明図である。

【符号の説明】

- 1 1, 9 2, 9 5, 9 6 レンズ
- 1 2, 1 2 a, 4 1 ダイクロイックミラー
- 1 3 対物レンズ
- 1 4, 3 6, 9 3 サンプル
- 1 5 サイト
- 1 6, 1 6 a, 3 8, 9 4, 9 7 バリアフィルタ
- 1 7, 1 7 a, 2 5, 3 2, 3 7, 3 9 レンズ
- 1 8, 1 8 a 受光器
- 2 1, 3 3 マイクロレンズアレイ
- 2 3, 3 6 サンプル
- 3 1, 5 1, 8 1, 9 1 光源
- 3 4 回転板
- 3 5 モータ
- 4 0 カメラ
- 5 2 第 2 光源
- 6 0 蛍光フィルタ付レンズ
- 6 1 平凸レンズ
- 6 2 蛍光用干渉膜

7 1 遮光部材

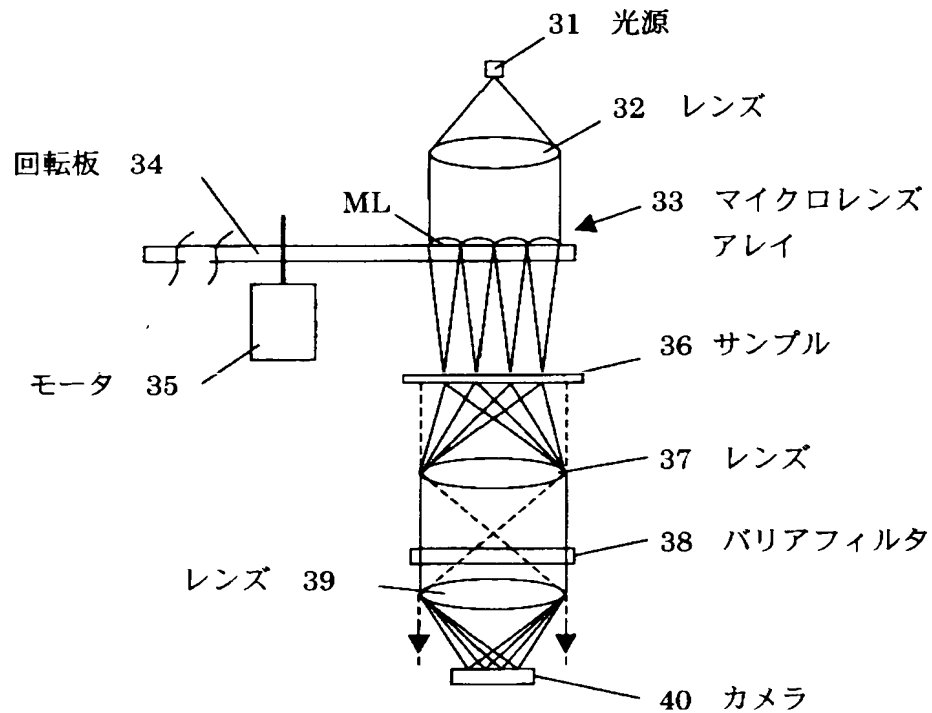
7 2 ミラー

1 0 0 マスク

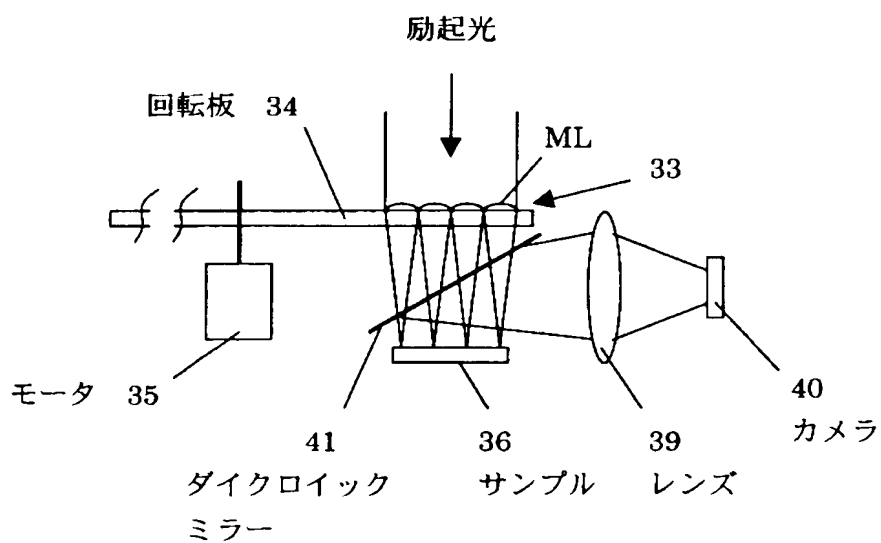
1 1 0 ズーム機構部

【書類名】 図面

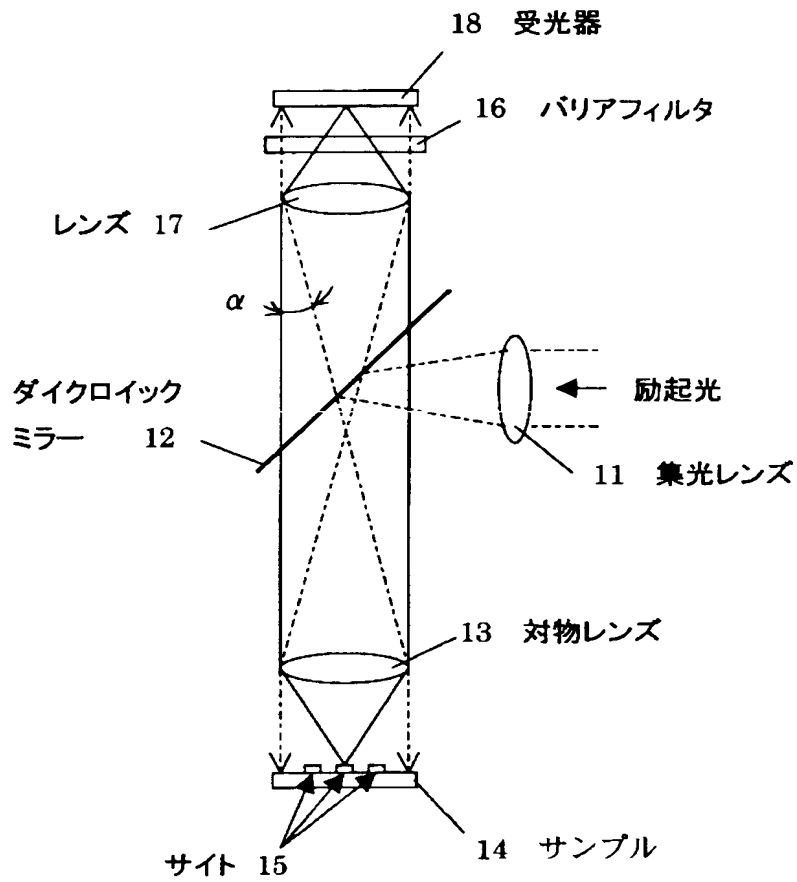
【図 1】



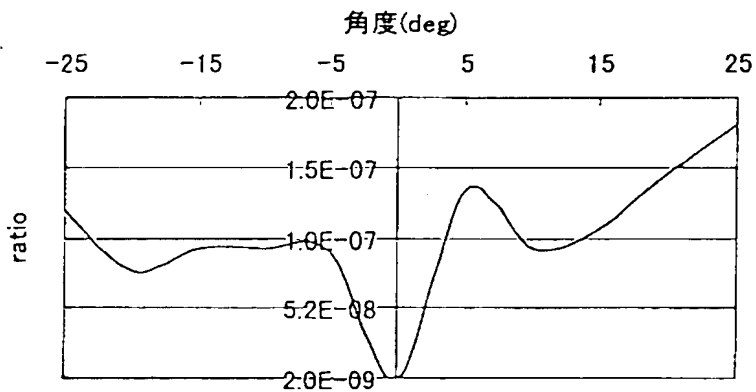
【図 2】



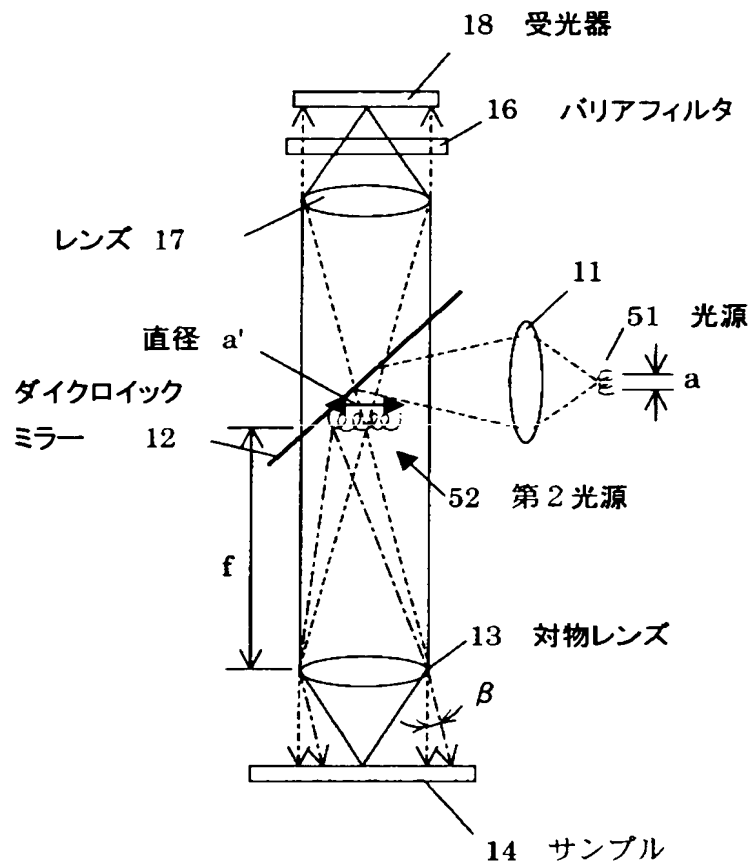
【図 3】



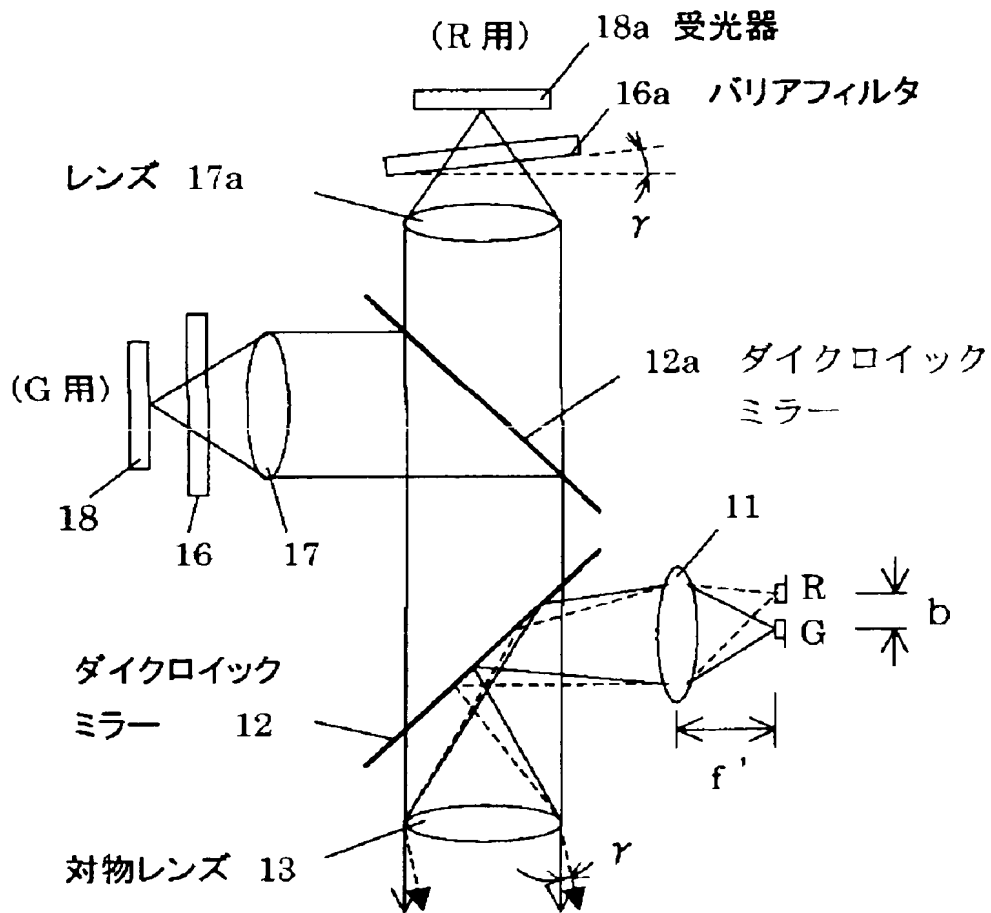
【図 4】



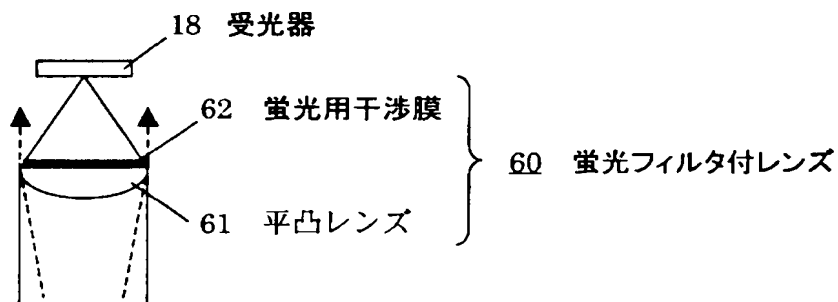
【図 5】



【図 6】

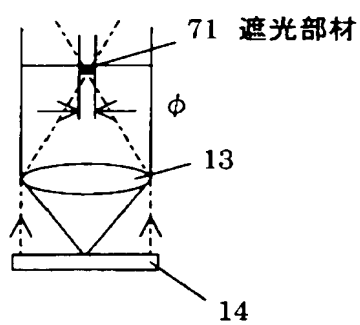


【図 7】

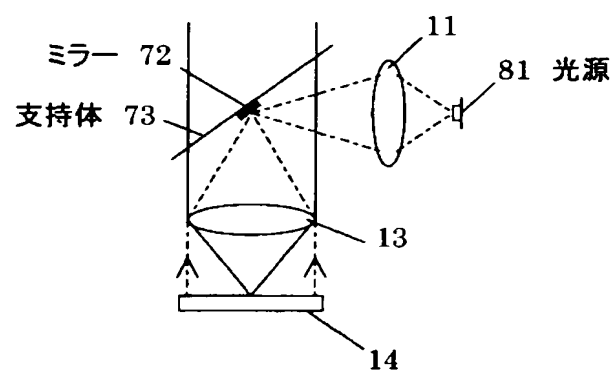




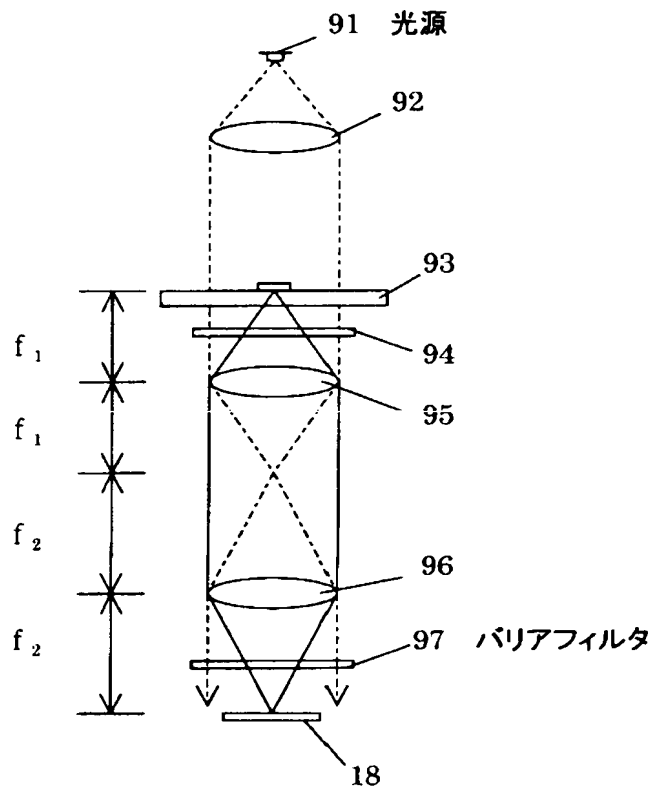
【図 8】



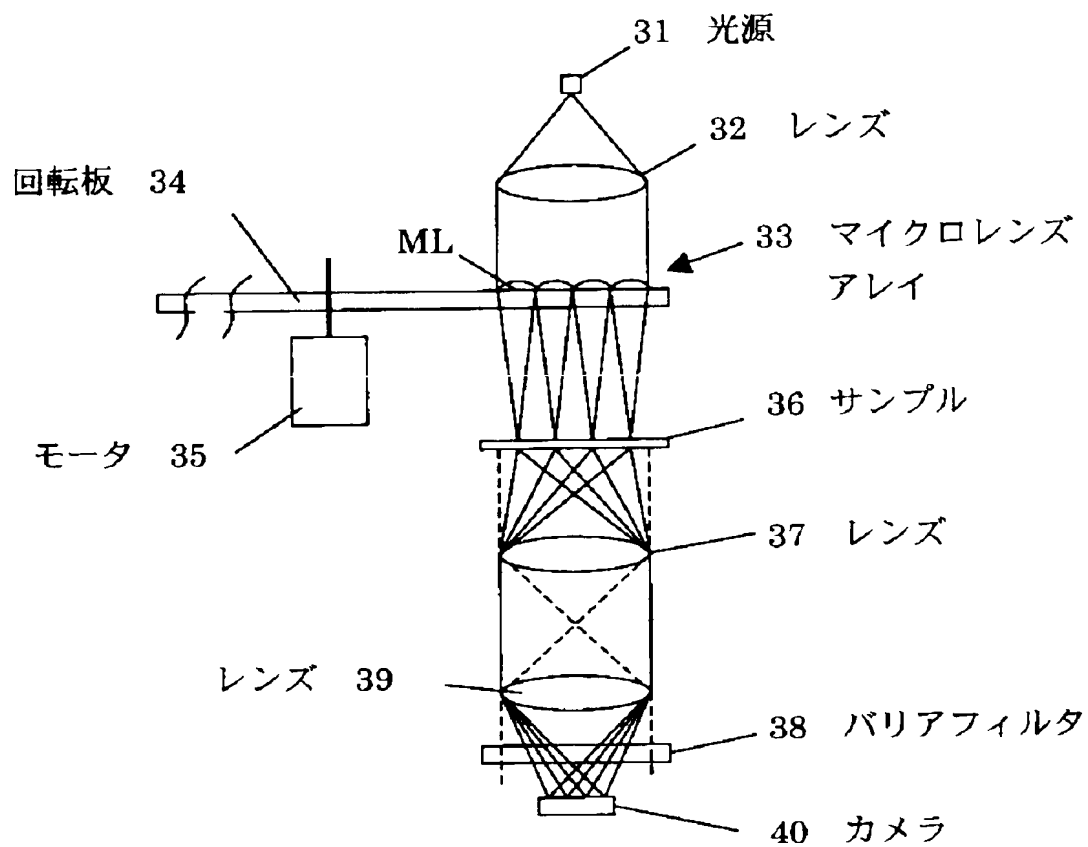
【図 9】



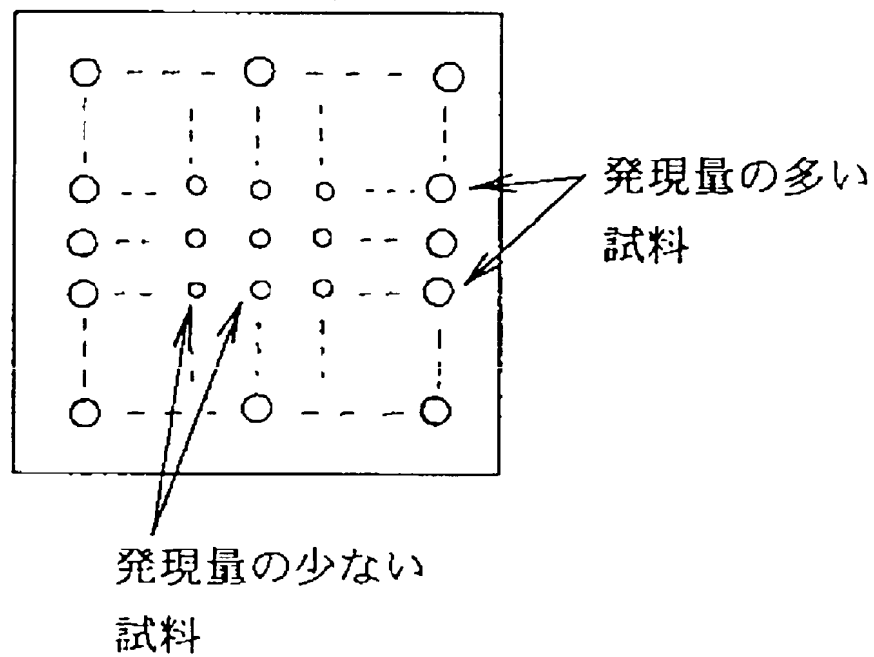
【図 1 0】



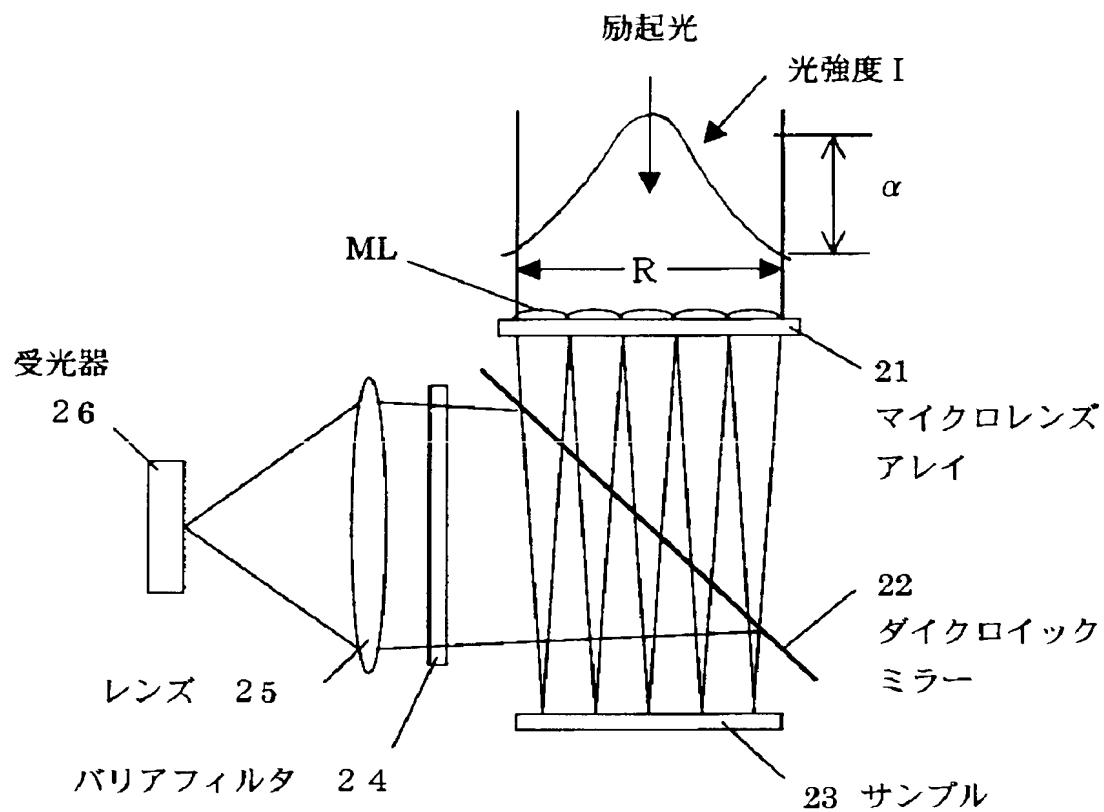
【図 11】



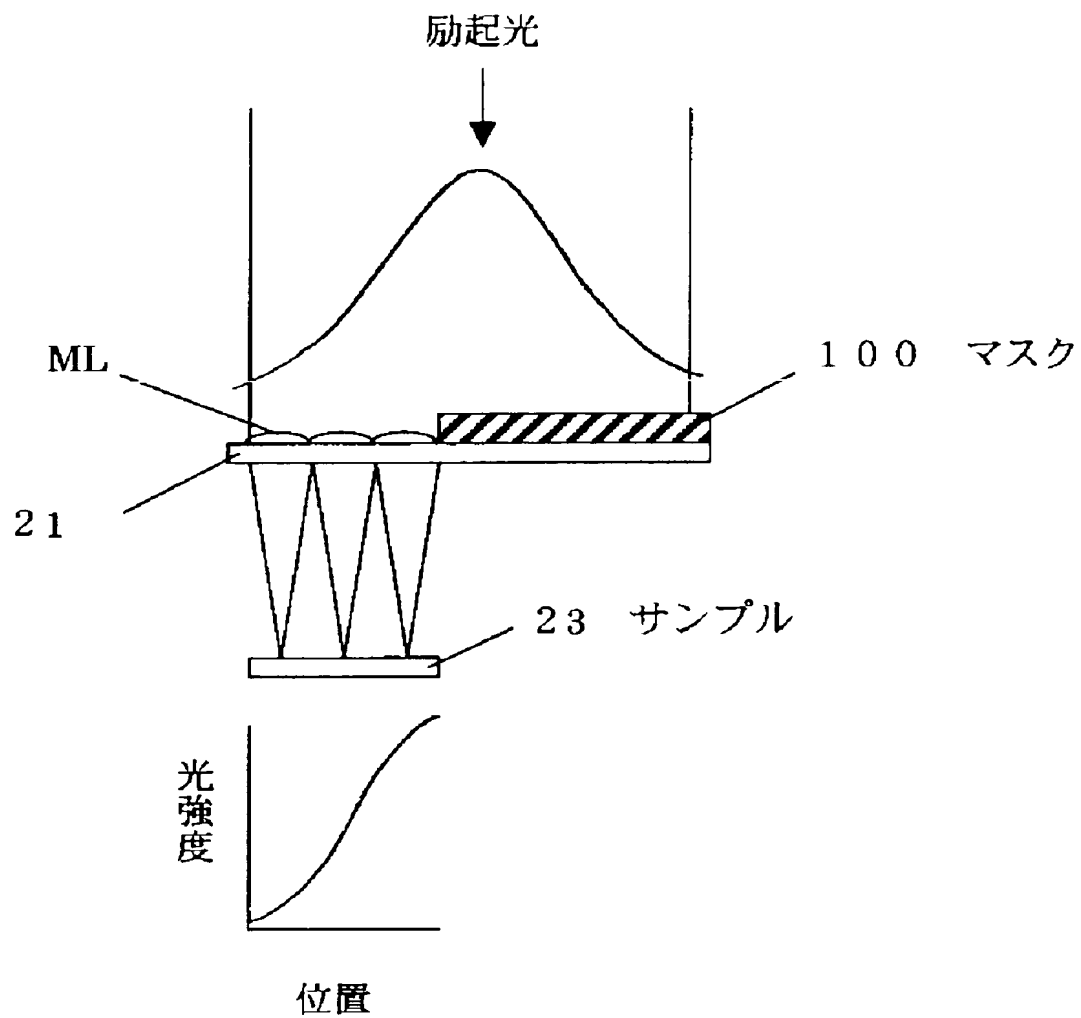
【図 12】



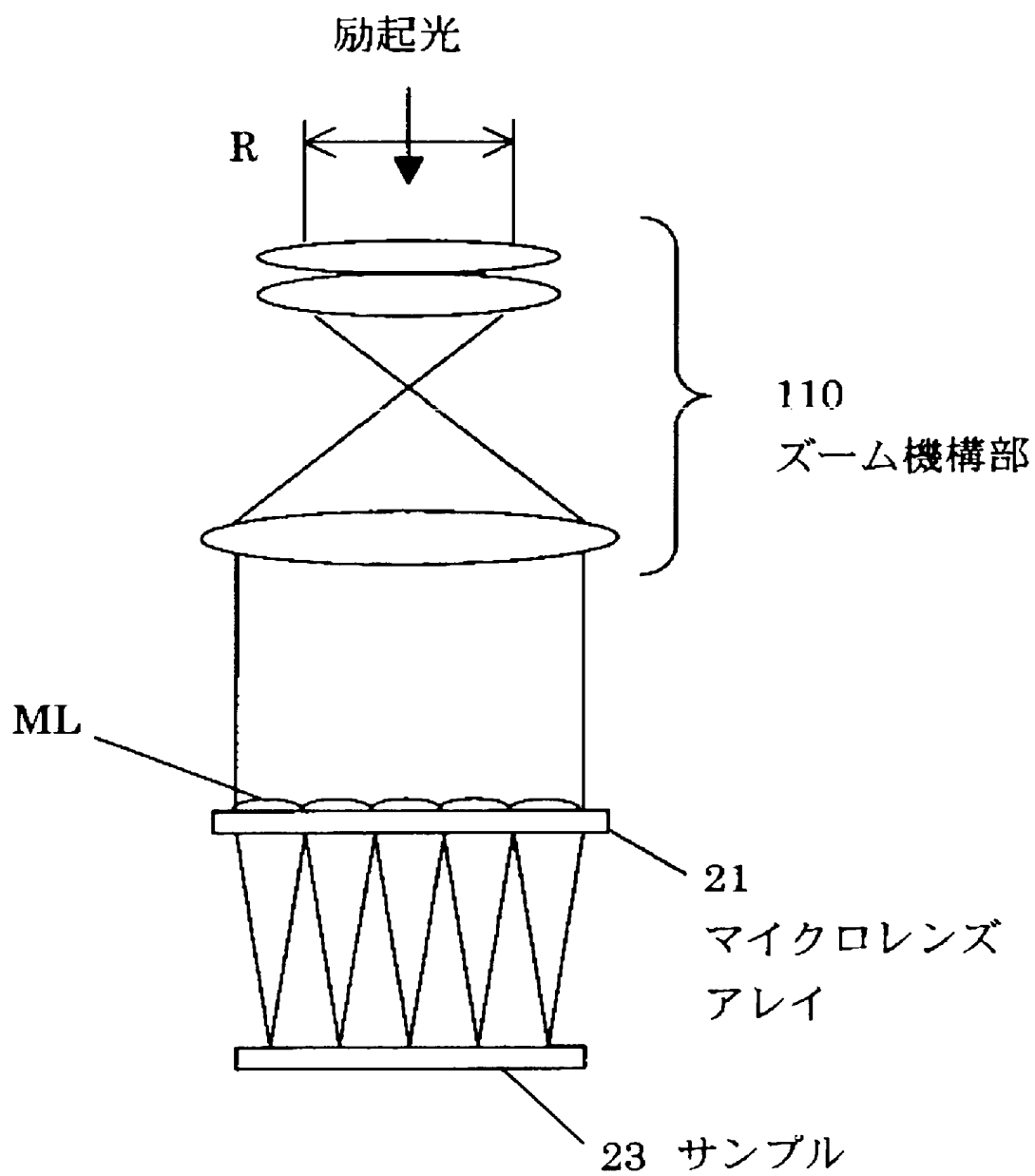
【図 13】



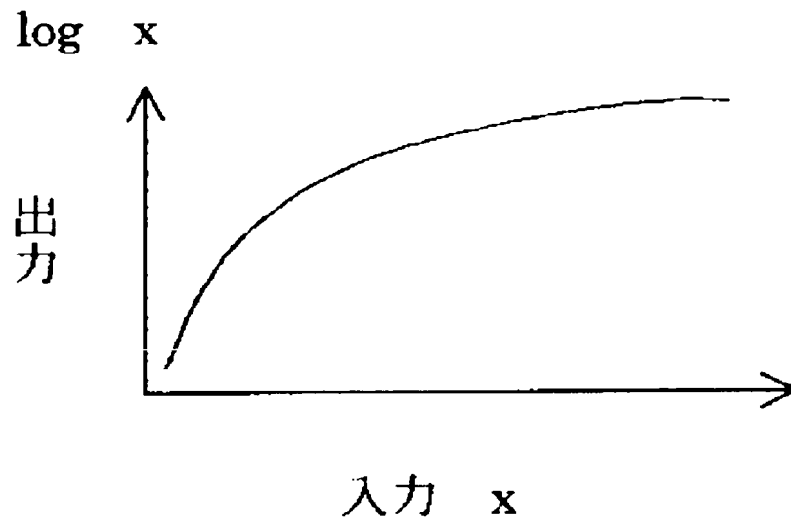
【図 1 4】



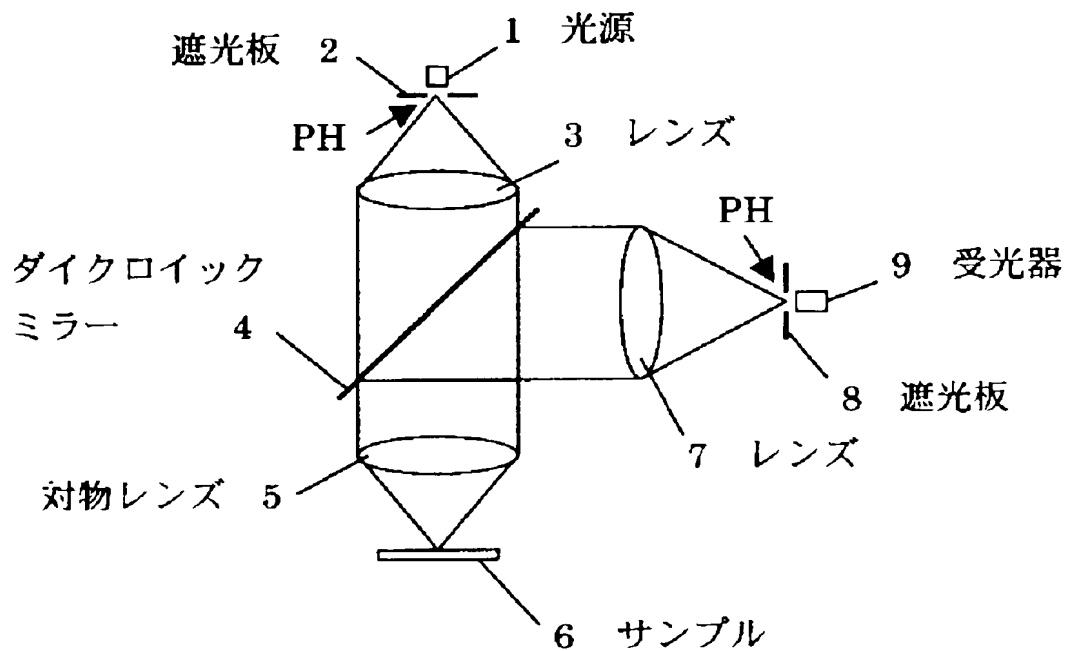
【図15】



【図 16】

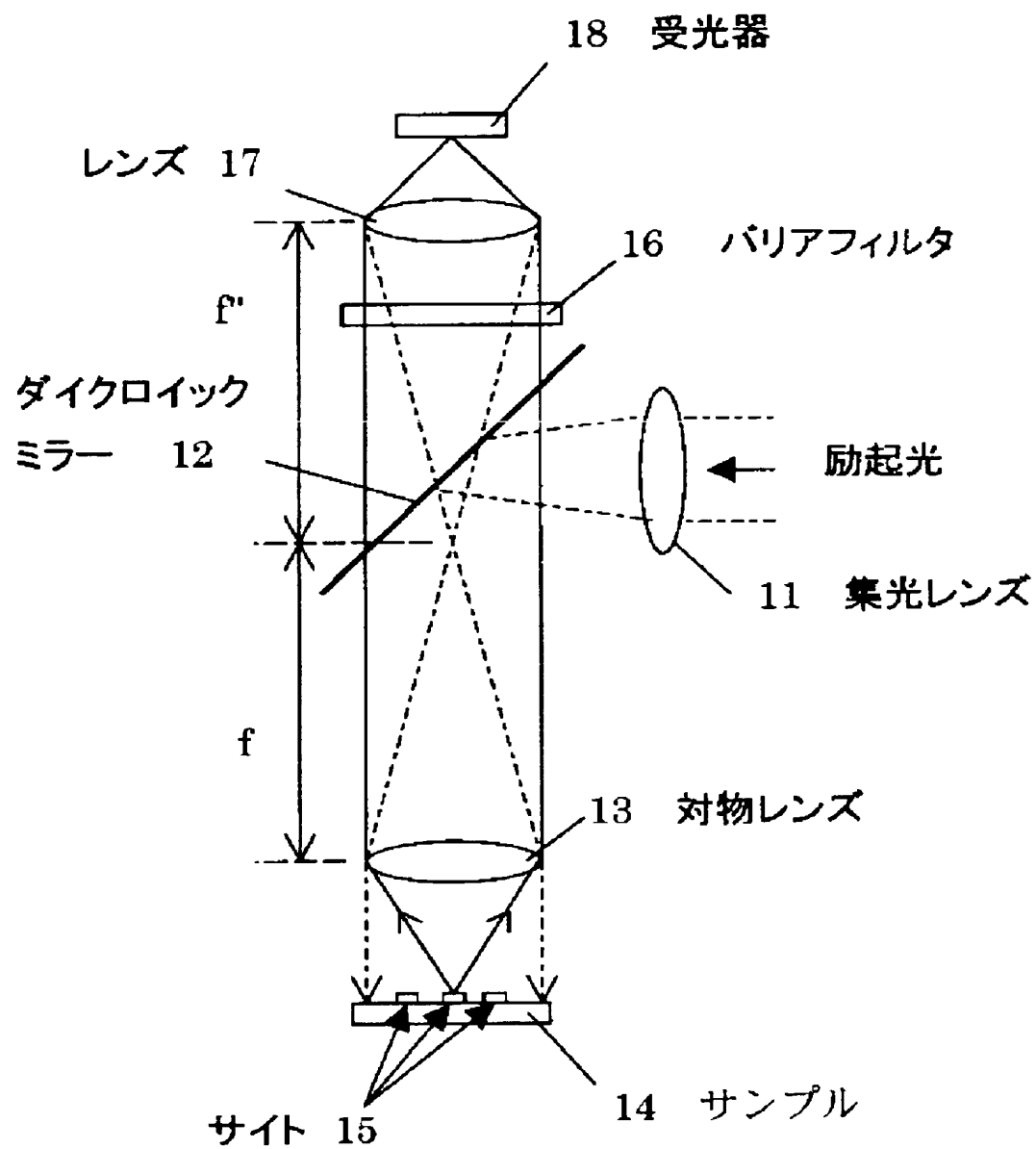


【図 17】

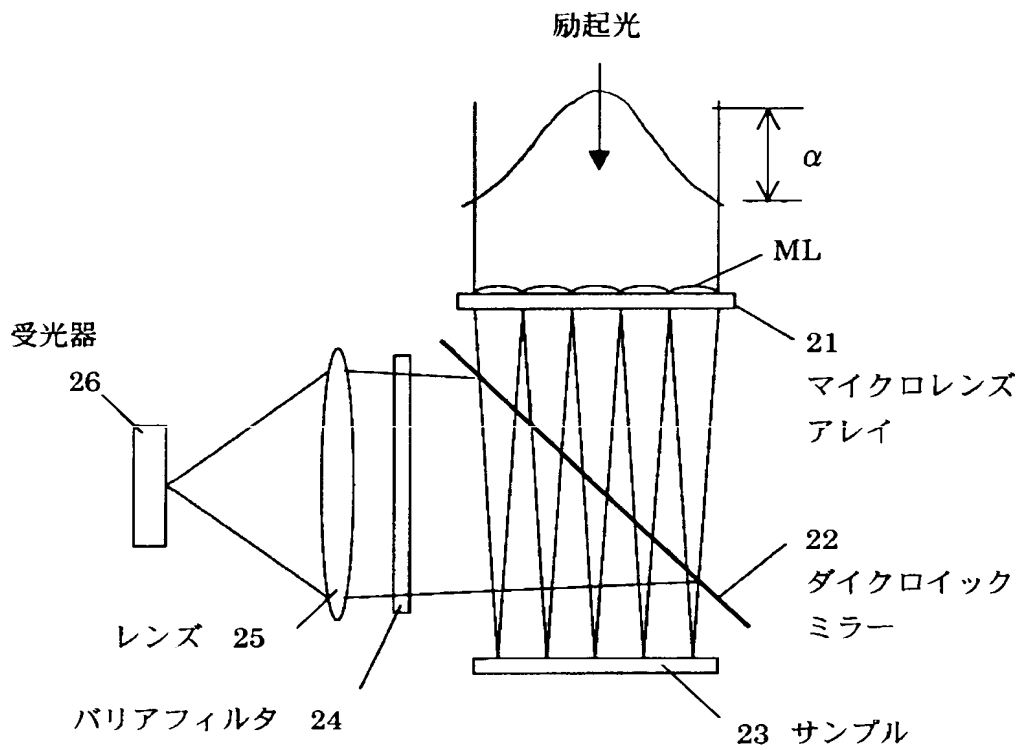




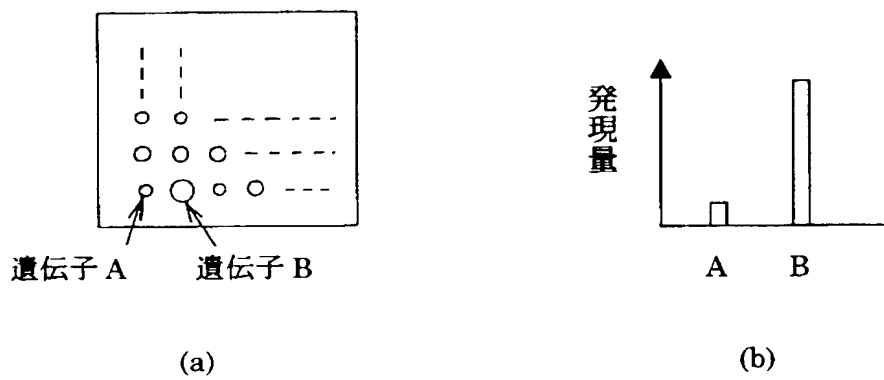
【図 18】



【図 19】



【図 20】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 小型・安価で、耐久性に富むバイオチップ読取装置を提供する。

【解決手段】 レーザ等のコヒーレント光を励起光としてバイオチップの各セルに照射し、バイオチップの各セルの試料から発生する蛍光を読取るようにしたバイオチップ読取装置において、

複数のマイクロレンズが配置され回転可能に形成された回転板と、

2次元状に配列された受光素子により前記バイオチップの蛍光像を受光する2次元状の受光器

を具備し、前記回転板を回転し前記複数のマイクロレンズで個別に集光された励起光ビームにより光走査し、前記バイオチップの各セルが個別に照射されるように構成する。

【選択図】 図 1

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000006507]

1. 変更年月日	1990年 8月10日
[変更理由]	新規登録
住 所	東京都武蔵野市中町2丁目9番32号
氏 名	横河電機株式会社